

ヒト肝内胆管系における内分泌細胞の組織化学的、 免疫組織化学的検索

金沢大学医学部病理学第二講座 (主任：太田五六教授)

車 谷 宏

(昭和62年1月7日受付)

肝内胆管系上皮層内における内分泌細胞の存在については未だ報告がない。本研究では、その有無と変動を知るため胎児正常肝7例、乳児正常肝7例、成人正常肝20例の肝内大型胆管、肝内結石症肝21例の結石部胆管、肝内胆管癌10例を対象として組織化学的、免疫組織化学的研究を行なった。なお、肝内胆管系の上皮組織を、胆管被覆上皮、胆管壁内腺上皮および胆管壁外腺上皮の3成分に分け検索を行なった。その結果、正常成人肝では20例中14例(70%)に内分泌細胞が散発的に認められ、その殆んどが argyrophil 細胞、ソマトスタチン含有細胞であり、壁外腺にのみ分布していた。それらの分布密度は乳児肝 (argyrophil 細胞, 7.8 ± 4.0 ; ソマトスタチン含有細胞, $4.3 \pm 2.0\%$) が成人肝 (1.2 ± 0.9 ; $0.79 \pm 0.62\%$) より高かった ($p < 0.005$)。一方、胆管付属腺の増殖を伴う肝内結石症肝では、これら内分泌細胞の分布密度 (0.24 ± 0.12 ; $0.13 \pm 0.10\%$) は正常成人肝のそれより低かった ($p < 0.005$)。しかし、増殖壁内腺あるいは胆管被覆上皮層内では、正常肝に殆んどみられない argentaffin 細胞、セロトニン含有細胞、胰ポリペプチド含有細胞、モチリン含有細胞、グルカゴン含有細胞、ガストリン含有細胞が出現していた。更に、2例の肝内結石症では内分泌細胞の過形成 (1例は argyrophil 細胞、他はセロトニン含有細胞) が認められた。肝内胆管癌10例中2例(20%)に癌細胞内 argyrophil 顆粒を認めたが、極く少数であり、内分泌細胞由来と考えられる胆管癌は認められなかった。以上の結果より、肝内大型胆管系の上皮細胞層は、腸管系内分泌細胞を生理的に少数乍ら保有しているので、腸管系上皮に近いものと判断された。また、肝内結石症の慢性増殖性胆管炎においては、生理的にみられない各種ホルモン含有細胞が出現しているので、これらをホルモン含有細胞化生と考えた。

Key words endocrine cell, intrahepatic bile duct, hepatolithiasis, endocrine cell hyperplasia

胃・腸管系をはじめ、気道系、尿管系などの原腸由来の諸臓器には様々な種類の内分泌細胞が広く分布することが知られている¹⁾²⁾。そしてこれら諸臓器において、内分泌細胞の生理的狀態での分布やその機能、病的狀態での変動とその病的意義が次第に明らかにされている。さらに内分泌細胞と腫瘍発生との関連性も注目されている。

前腸由来である胆道系においては、主として胆嚢粘膜で、内分泌細胞の研究がなされている^{3)~9)}。その結果では、内分泌細胞の出現は、化生粘膜でしばしば認められ、癌発生との関連性が論じられているが、正常胆嚢粘膜での内分泌細胞の存在に関しては否定的な報告が多い、しかし、最近、Dancygier ら¹⁰⁾、Yamamoto ら¹¹⁾は、正常狀態でも肝外胆管に内分泌細胞が存在し、

機能している可能性を指摘している。一方、肝内胆管系での内分泌細胞の存在とその分布、病的狀態における変動に関しては記載がない。

さて、当教室の肝内胆管系の形態研究の結果、肝内胆管系の主として領域胆管までのレベルには、生理的に付属腺があり、肝内結石症などの病的狀態では、この付属腺組織の著しい増生がみられ、さらに、肝内胆管系の慢性増殖炎を基盤として胆管癌が発生することを報告してきた¹²⁾¹³⁾。そこで、著者は、まず正常肝内胆管系(被覆上皮および付属腺組織)に内分泌細胞が存在するかどうか、およびその細胞の種類を検索した。そして、これらの内分泌細胞が病的狀態、特に肝内結石症でどのように変動するかを検索し、その病的意義を検討した。さらに肝内胆管癌で内分泌細胞の関与す

るものがあるかどうかについても検討した。

対象および方法

肝内胆管系は、左右肝管合流部より肝側とし、左右肝管、区域胆管、領域胆管の順に分枝する。寺田¹⁴⁾によって記載された胆管付属腺を有するこれら大型胆管を中心に観察した。組織学的には胆管内腔を直接覆う被覆上皮、その直下の細胞成分に乏しい緻密な繊維性結合組織を胆管壁とし、この壁内の腺組織を壁内腺、ま

た、壁外に小葉状の配列を示す腺組織を壁外腺とした。

対象は胎児正常肝7例（胎齢3，4，5ヶ月の人工流産例および胎齢6，6，8，8ヶ月の剖検例）、乳児正常剖検肝7例（生後2，2，3，4，6，7，11ヶ月）、成人正常剖検肝20例（平均年齢±標準偏差：57.1±15.5才，男15，女5）、肝内結石症の外科切除肝21例（58.8±13.0才，男3，女18）、肝内胆管癌の外科切除例10例（60.0±10.5才，男5，女5）である。

Table 1. List of primary antisera

Antisera against	Positive control tissue	Dilution	Incubation time	Source
serotonin	prostate	1:400	30 min.	Sera-Lab, England
somatostatin	pancreas	1:400	30 min.	DAKO corp., U.S.A.
gastrin	stomach	1:1600	over night	DAKO corp., U.S.A
insulin	pancreas	1:800	30 min.	DAKO corp., U.S.A
glucagon	pancreas	1:400	30 min.	Amersham Int., England
cholecystokinin	jejunum	1:3200	over night	Amersham Int., England
pancreatic polypeptide	pancreas	1:8	over night	BioGenex Lab., U.S.A.
secretin	jejunum	1:8	over night	BioGenex Lab., U.S.A.
motilin	jejunum	1:3200	over night	*CRB, England

*, Cambridge Research Biochemical Ltd.

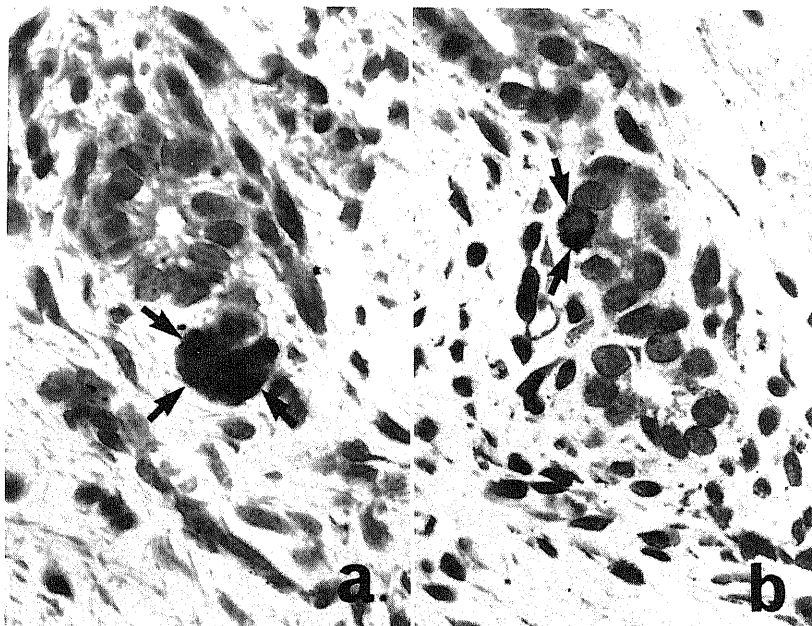


Fig. 1. (a): Somatostatin-containing cells in fetus liver. Some of glandular cells (arrows) around the left hepatic duct are positive for somatostatin. ABC method for somatostatin and hematoxylin. $\times 700$.
(b): Argyrophil cell in same liver as (a). One of glandular cells (arrows) around the right hepatic duct is argyrophilic. Grimelius' stain. $\times 700$.

いずれも 10%中性ホルマリン固定のパラフィン切片を用い、胎児肝では肝門部を中心として 1-6 個、乳児肝、成人肝では左右の肝管と区域胆管、領域胆管を含む 3-5 個、結石症肝では肥厚した結石部胆管より 3 個、肝内胆管癌では癌組織を含む 1-5 個の組織切片をそれぞれの例について採取した。これらを組織化学、免疫組織化学染色に供した。また、必要に応じて連続切片を作成した。

肝内結石症の 2 例（新鮮、ホルマリン固定材料）では、結石胆管の 1 部を冷 2.5%グルタルアルデヒド内で細切し、型の如く、グルタルアルデヒド、オスミウム酸で固定し、エポン 812 に包埋、超薄切片を作成し、これを酸酢ウラニール、硫酸鉛で二重染色した後、電顕下（日立 H300 型）で内分泌細胞を観察した。

I. 組織化学

argyrophil 細胞の同定のために Grimelius 法、argentaaffin 細胞の同定のために Masson-Fontana 法の各銀染色を行った。

II. 免疫組織化学

セロトニン、ソマトスタチン、ガストリン、インスリン、グルカゴン、コレシストキニン、膵ポリペプチド、セクレチンおよびモチリンを、表 1 に示した抗血清を用い、avidinbiotin-peroxidase complex (ABC)

法¹⁵⁾にて検出を試みた。即ち、脱パラフィンした切片の内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止した後、ブタあるいはヤギ正常血清で非特異的染色を阻止し、室温で 1 次血清と反応させた（個々の 1 次血清の稀釈濃度および反応時間は表 1 に示した）。その後、Vecstain 社 (U.S.A) の ABC キット (PK-4001, PK-400, PK-4007) を使用し、稀釈ビオチン抗体と 30 分間、ABC 試薬と 30 分間各室温で反応させた。その後、0.005%過酸化水素加 3, 3 ジアミノベンチジン (Sigma 社, U.S.A) 溶液中で発色させ、ヘマトキシリンで核染し、褐色の反応物を陽性とした。陽性対照として表 1 の如き組織を用い、陰性対照として 1 次血清の代わりに正常血清を用い、それぞれ染色を行った。

III. 内分泌細胞陽性腺房密度の測定

内分泌細胞を定量的に表現するため、内分泌細胞が 1 個でも認められた腺房を陽性腺房とし、100 腺房当たりの陽性腺房数を % (陽性腺房密度) で算出した。その計算式は以下の通りである。

$$\text{内分泌細胞陽性腺房密度} = \frac{\text{陽性腺房数}}{\text{全腺房数}} \times 100$$

推計学的処理は、百分率についてはプロビット変換後、F 検定により危険率 1% 以下をもって有意差ありと判定した。

Table 2. Results of histochemical and immunohistochemical reactions for endocrine cells in intrahepatic bile duct system in normal livers and those of with hepatolithiasis

	GRI	M-F	SOM	SER	PP	MOT	GLU	GAS	CCK	SEC	INS
Infant livers (n=7)											
surface epithelia	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
intramural glands	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
extramural glands	6	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0
total*	6	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0
(%)	(86)	(0)	(100)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Adult livers (n=20)											
surface epithelia	1	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
intramural glands	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
extramural glands	13	1	10	1	1	0	0	0	0	0	0
total*	13	2	10	2	1	0	0	0	0	0	0
(%)	(65)	(10)	(50)	(10)	(5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Livers with hepatolithiasis (n=21)											
surface epithelia	5	3	0	3	0	0	0	1	0	0	0
intramural glands	10	6	1	6	2	1	1	1	0	0	0
extramural glands	20	8	8	10	1	1	1	0	0	0	0
total*	21	10	9	11	3	2	2	1	0	0	0
(%)	(100)	(48)	(43)	(52)	(14)	(10)	(10)	(5)	(0)	(0)	(0)

(the number of positive cases for each endocrine cells)

*. It means any sites in intrahepatic bile duct system.

GRI, Grimelius' stain; M-F, Masson-Fontana' stain; SOM, somatostatin; SER, serotonin; PP, pancreatic polypeptide; MOT, motilin; GLU, glucagon; GAS, gastrin; CCK, cholecystokinin; SEC, secretin; INS, insulin.

成 績

I. 正常肝

1. 胎児および乳児肝

胎児の肝内、肝外胆管には小葉構造のみられる明らかな付属腺組織は殆んど認められず、6ヶ月以降の例で2, 3の腺房様構造物が集合したもの(恐らく壁外腺)が僅かに大型胆管近くにみられた。壁内腺は全くみられなかった。これに対し、乳児では付属腺組織が胆管壁内、壁外に認められ、壁内腺は成人の場合と同様極めて少なく、壁外腺は1切片あたりの腺房数が 34 ± 20 個と成人(126 ± 137 個)より少なかった($p < 0.005$)。

胎児肝7例中1例(胎児6ヶ月末)に、肝管に近接した腺房様構造物中にGrimelius陽性のargyrophil細胞とソマトスタチン含有細胞が認められたが(図1 a,b), 他の6例では陰性であった。また、argentaffin細胞やセロトニン、モチリン、膵ポリペプチド、グルカゴン、ガストリン、コレシストキニン、セクレチン、インスリン含有細胞はすべての胎児肝で陰性であった。

乳児肝7例中6例(86%)にargyrophil細胞、全例にソマトスタチン含有細胞がそれぞれ壁外付属腺腺房中に認められた。なお、1例にソマトスタチン含有細胞が胆管被覆上皮層内にも認められた(表2)。この2種の内分泌細胞は単細胞性に存在していたが、稀れに腺房内で小集簇性にみられることもあった。他の種類の内分泌細胞はみられなかった。

argyrophil細胞、ソマトスタチン含有細胞の壁外腺における陽性腺房密度は $7.8 \pm 4.0\%$ (平均値±標準偏差, 以下同じ)、 $4.3 \pm 2.0\%$ であり、両者の間に有意の差はなかった(表3)。

2. 成人肝

20例中14例(70%)に何れかの内分泌細胞が主に

壁外腺に認められた。表2の如く、argyrophil細胞が13例(65%)陽性で、ソマトスタチン含有細胞が10例(50%)に認められ、それぞれ1種の内分泌細胞のみ、または両方ともが認められた。その他、Masson-Fontana陽性のargentaffin細胞、セロトニン含有細胞が2例に、膵ポリペプチド含有細胞が1例に認められた。以上の内分泌細胞は、殆んど壁外腺に限局して出現し、胆管被覆上皮層内に内分泌細胞を認めたのは2例のみであった。内分泌細胞の分布は壁外腺腺房内に単細胞性であったが、ソマトスタチン含有細胞だけは稀れに小集簇性であった(図2)。

壁外腺における好銀細胞、ソマトスタチン含有細胞の陽性腺房密度は、それぞれ、 1.2 ± 0.9 , $0.79 \pm 0.62\%$ であり両者の間に有意の差はなかった(表3)。この密度は、乳児肝のもの(7.8 ± 4.0 , $4.3 \pm 2.0\%$)より低かった($p < 0.005$)。

同一切片上での組織化学と免疫組織化学染色の結果、ソマトスタチン含有細胞はargyrophiliaを示さず、また、セロトニン含有細胞はargyrophiliaを示した(図3 a, b)。

II. 肝内結石症肝

表2に示すように、argyrophil細胞が結石症肝21例全例に認められ、ソマトスタチン含有細胞は9例(43%)に認められた。また、セロトニン含有細胞、Masson-Fontana陽性のargentaffin細胞がそれぞれ11例(52%), 10例(48%)に認められ、その他に膵ポリペプチド、モチリン、グルカゴン、ガストリンを含有する内分泌細胞がそれぞれ3例、2例、2例、1例に認められた。コレシストキニン、セクレチン、インスリンを含有する細胞は全く認められなかった。これら内分泌細胞の肝内胆管における分布状態は多彩であり、壁外腺のみならず、壁内腺、胆管被覆上皮層内でも認められた。しかし、ソマトスタチン含有細胞だけは殆んど壁外腺に限局して認められた。

Table 3. The mean density of acini with argyrophil cells and of those with somatostatin containing cells in extramural glands of intrahepatic bile duct in normal livers and hepatolithiasis

	% acini with positive cells for	
	GRI	SOM
Normal infant liver	7.8 ± 4.0 (n=6) *	4.3 ± 2.0 (n=7) *
Normal adult liver	1.2 ± 0.9 (n=13) *	0.79 ± 0.62 (n=10) *
Hepatolithiasis	0.24 ± 0.12 (n=19)	0.13 ± 0.10 (n=7)

*, Significant at 0.5 per cent level (F-test).

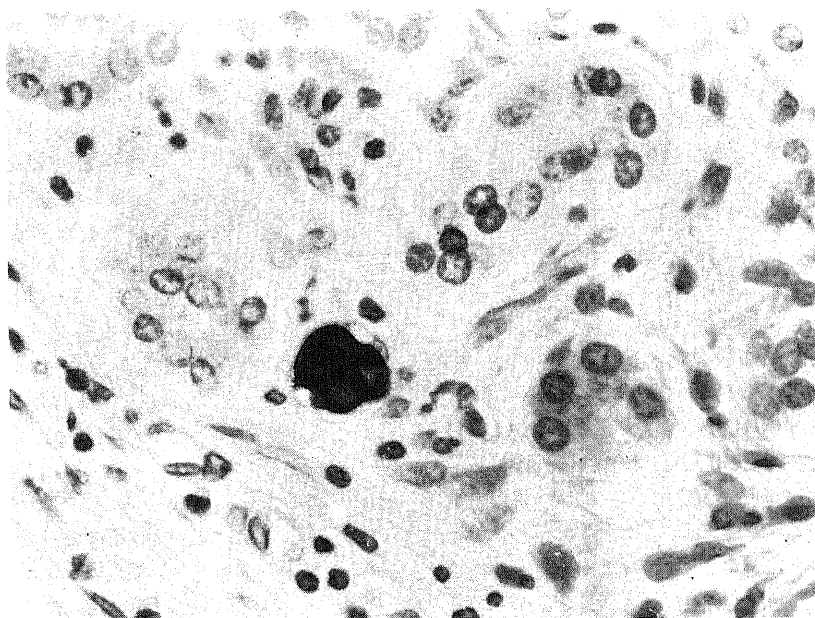


Fig. 2. A cluster of somatostatin-containing cells in normal adult liver. A cluster of acinal cells in the extramural glands around the left hepatic duct shows immunoreactivity for somatostatin. ABC method for somatostatin and hematoxylin. $\times 700$.

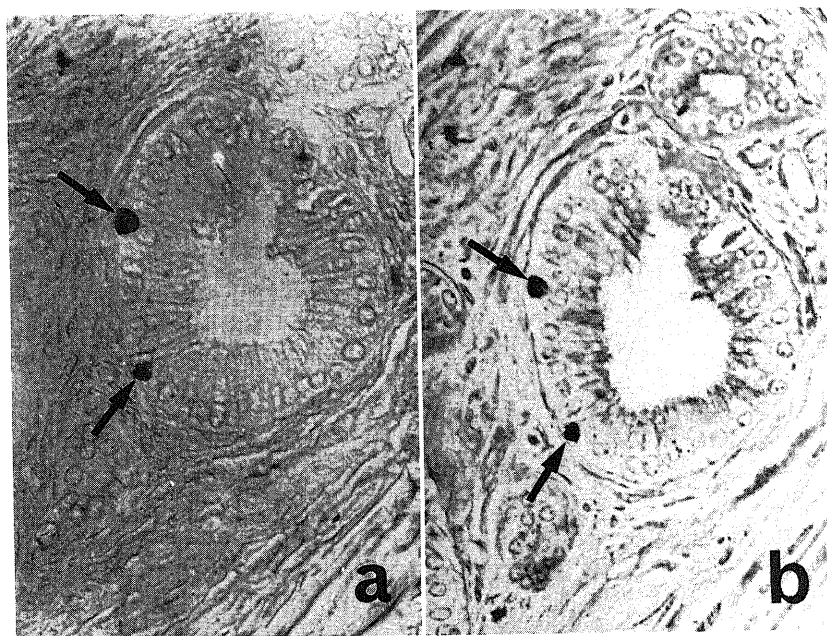


Fig. 3. Serotonin-containing argyrophil cells in normal adult liver. Two positive cells for serotonin (a, arrows) are argyrophilic (b, arrows) in surface lining epithelial layer of septal bile duct. a and b are the same area of the same section which was first stained with ABC method for serotonin (a) and then was stained with Grimelius' stain(b). $\times 350$.

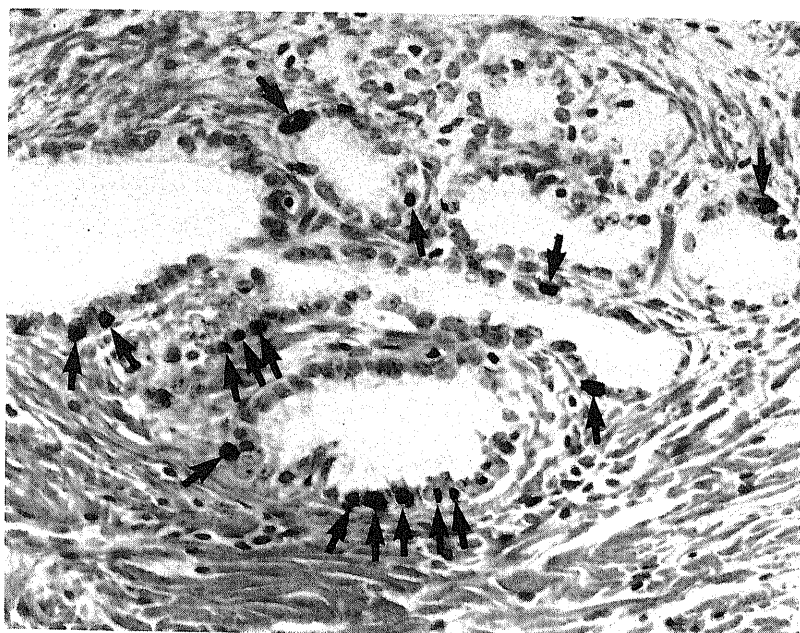


Fig. 4. Endocrine cell hyperplasia in hepatolithiasis. There are many argyrophil cells (arrows) within the extramural glands. Grimelius' stain. $\times 350$.



Fig. 5. Endocrine cell hyperplasia in hepatolithiasis. Many cells within the intramural glands show immunoreactivity for serotonin (arrows). ABC method for serotonin and hematoxylin. $\times 175$.

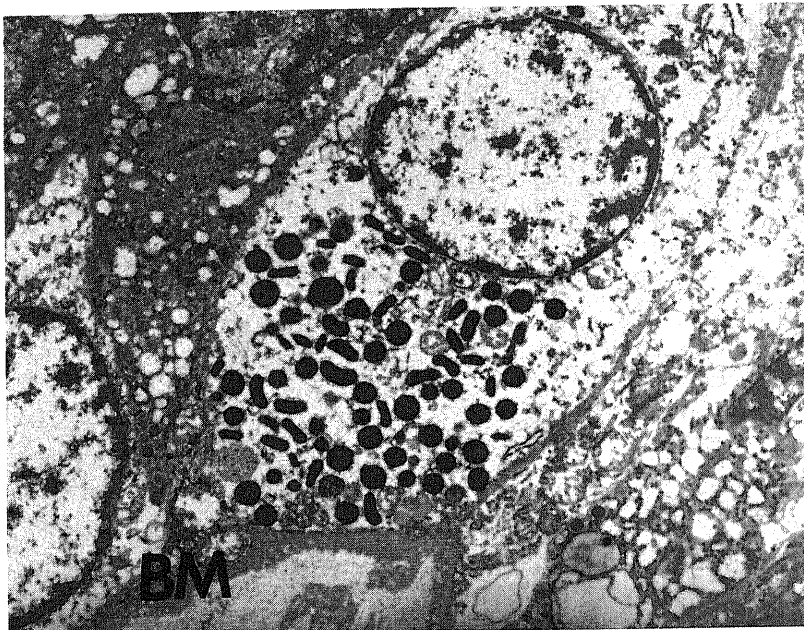


Fig. 6. Electron-dense secretory granules in glandular cell in hepatolithiasis. One cell discloses many electron-dense granules with varying shape in subnuclear cytoplasm in intramural gland in hepatolithiasis. $\times 6,000$.

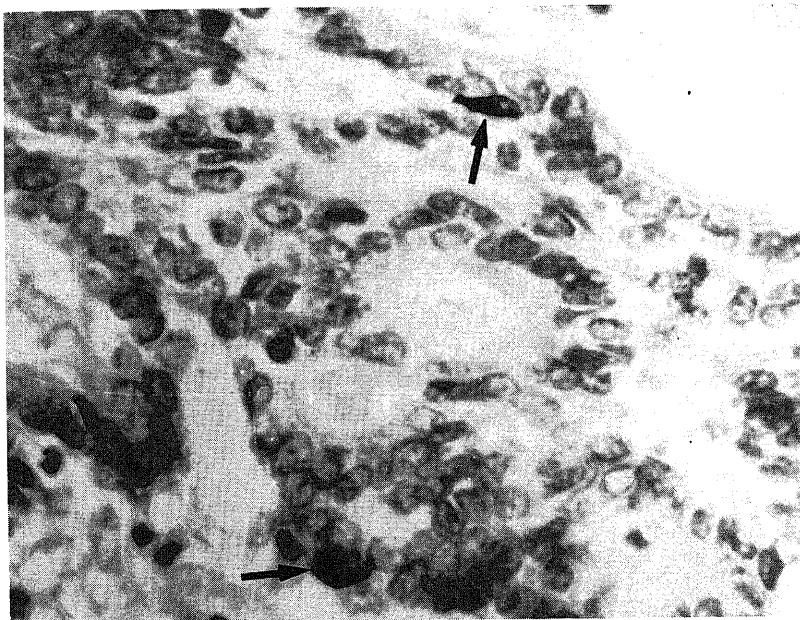


Fig. 7. Argyrophil cells in intrahepatic bile duct carcinoma. Two of carcinoma cells (arrows) show argyrophilia in adenocarcinoma. Grimelius' stain. $\times 700$.

内分泌細胞は壁外腺でも壁内腺でも単細胞性に分散していたが、2例の結石症肝では集簇性に多数の内分泌細胞が出現し、そのうち1例では壁外腺において argyrophil 細胞が(図4)、他の1例では壁内腺においてセロトニン含有細胞が主として集簇性出現していた(図5)。

壁外腺での argyrophil 細胞、ソマトスタチン含有細胞の平均陽性腺房密度は 0.24 ± 0.12 , $0.13 \pm 0.10\%$ であり両者の間に有意差はなかった(表3)。この結石症での密度は、正常肝のそれより低かった ($p < 0.005$)。

2例で行なった電子顕微鏡による観察では、2例ともに壁内腺で膜に囲まれ電子密度の高い分泌顆粒を豊富にもつ内分泌細胞を認めた(図6)。尚、壁外腺での内分泌細胞の確認は出来なかった。

III. 肝内胆管癌

10例の肝内胆管癌のうち2例で癌細胞巢中に Grimelius 陽性の argyrophil 細胞を認めた。1例は微小癌で1切片でわずかに1個の好銀細胞が、他の1例は塊状の癌で5切片中2切片で散発的に好銀細胞が認められた(図7)。他の内分泌細胞マーカーはこの2例を含め検索した10例では全く陰性であり、ホルモン産生腫瘍は認められなかった。

考 察

ヒトの肝外胆管系の内分泌細胞に関して多数の報告がなされているが⁹⁻¹¹⁾、肝内胆管系においては全くない。今回の研究がヒト肝内胆管系の内分泌細胞の生理的存在を確認し、肝内結石症における変動を検索した初めての研究であると思われる。

肝外胆管系の内分泌細胞に関する研究の多くは胆石症胆嚢を用いて行なわれている⁹⁻¹¹⁾。argentaffin 細胞、argyrophil 細胞、種々のホルモン含有細胞がこのような胆嚢の化生上皮の部分に認められており、Tsutsumi ら⁹⁾は特定の内分泌細胞の出現は goblet 細胞で代表される腸上皮化生巢の出現と密接に関連するとしている。いずれの報告も正常粘膜の部分には内分泌細胞を認めていない。

一方、肝管、総胆管に関して、Dancygier ら¹⁰⁾はソマトスタチン含有細胞が稀に粘膜下腺組織に認められるが、被覆上皮には認められなかったとし、正常状態でも肝外胆管にソマトスタチン含有細胞が存在すると推測している。また、Yamamoto ら¹¹⁾も胎児の胆道系に僅かに内分泌細胞を認めたと述べているが、記載が断片的である。

教室の寺田¹²⁾は肝外胆管のみならず肝内胆管系にも生理的に付属腺が存在し、壁内腺と壁外腺とに分け得ることを報告している。本研究により、成人正常肝の

約70%において、肝内胆管系の壁外腺に argyrophil 細胞やソマトスタチン含有細胞が少数存在することがわかった。のみならず、乳児肝7例すべてにおいてもそうであり、6ヶ月の胎児肝1例でも未熟な肝内胆管組織中にこれらの内分泌細胞が認められたので、肝内胆管系の主として壁外腺にある argyrophil 細胞とソマトスタチン含有細胞とは生理的に存在する固有の細胞と考えられた。一方、成人正常肝のごく少数例に認められたセロトニン含有細胞、argentaffin 細胞、膵ポリペプチド含有細胞は、胎児や乳児肝で全く認められなかったのも、これらの内分泌細胞は生理的には殆んど存在しないと考えるほうが妥当であろう。

このように、肝内胆管系に分布する内分泌細胞には、肝内胆管に固有のものとそうでないものがあると考えられ、前者としてソマトスタチン含有細胞、argyrophil 細胞が、後者としてセロトニン含有細胞、argentaffin 細胞、膵ポリペプチド含有細胞が考えられる。

I. 正常肝と結石症肝における内分泌細胞の比較

肝内結石症の肝内胆管系では、argyrophil 細胞、ソマトスタチン含有細胞が高率に認められたのみならず、生理的には存在しないと考えられるセロトニン含有細胞やその他のホルモン含有細胞がかなりみられた。さらにその分布に関しても、ソマトスタチン含有細胞が壁外腺にほぼ局限していたのを除けば、他の内分泌細胞は壁内、壁外腺のみならず、被覆上皮層にも存在していた。なお、肝内結石症の2例の壁内腺を電顕的に観察し、膜で囲まれた多数の分泌顆粒を持つ内分泌細胞を確認したが、産生ホルモンの内容は不明である。ソマトスタチン含有細胞の陽性腺房密度は、結石症肝で最も低く、乳児肝で最も高く、成人肝ではその中間であった。類似の現象は胃でも観察されており、ソマトスタチン含有細胞は胎児、乳児期に多いが、発育と共に相対的に減少し、慢性胃炎ではさらに減少するとされている¹⁰⁾。肝内結石症に伴った増殖性胆管炎においてもそうであったが、胆管壁の単位面積当たりの内分泌細胞の分布は、腺組織の増殖が著しいので、逆に密である印象を与えた。ソマトスタチンの生理的作用として、胆汁分泌や胆嚢収縮を抑制し¹²⁾、ソマトスタチン産生腫瘍では胆嚢結石の合併をみることがある¹³⁾とされているが、ソマトスタチン含有細胞の密度が肝内結石症で減少することから、肝内胆管における結石形成とソマトスタチンとの直接的な因果関係は否定的である。argyrophil 細胞は正常肝では65%の症例にしかみられなかったのに比し、結石症肝では全例にみられた。さらに、壁外腺のみならず、正常肝では殆んど出現しない被覆上皮層内や増生した壁内腺にもこ

れがみられた。argyrophil 細胞には、今回の検索によりセロトニンを含有するものがあり、慢性胃炎¹⁶⁾¹⁹⁾や慢性胆嚢炎²⁰⁾でもセロトニンや他のホルモンを含有する argyrophil 細胞の増生がみられるとされている。したがって、この現象は慢性炎症に伴う反応性の argyrophil 細胞増加と理解される。のみならず、肝内胆管系上皮の胃腸管上皮との類似性を示唆している。

その他、肝内結石症では、生理的に肝内胆管系には存在しない内分泌細胞が出現し、なかでも、セロトニンを含有する細胞は 52% の症例にみられ、膵ポリペプチドは 14%、モチリンは 10%、グルカゴンは 10%、ガストリンは 5% の症例でそれらが認められた。これらの胆管非固有内分泌細胞の発生は、胃腸管粘膜化生のあらわれだと思われる。この化生性変化は慢性胆嚢炎でも知られており²⁰⁾、セロトニン含有細胞が多く、他の種のホルモン含有細胞が少ないことは肝内結石症と同一である。注目すべき所見は、胆管非固有のホルモン含有細胞が、胆管固有のソマトスタチン含有細胞と異なり、胆管の被覆上皮、壁内腺、壁外腺に広く分布している点であった。この所見からも、胆管非固有の内分泌細胞の出現を化生と考える第 2 の理由がある。また、寺田¹⁴⁾は肝内結石症の肝内胆管壁内で増生する腺組織が慢性刺激にもとづく被覆上皮の陥入により出来るものであり、真の胆管固有腺は壁外腺のみであるとしている。この壁内腺と壁外腺に出現するホルモン含有細胞の相違は寺田の推測を支持する所見と考えられる。

II. 内分泌細胞過形成性病変

正常肝および殆ど肝内結石症肝において、いずれの種類の内分泌細胞もその数が少なく、かつ、腺房内では単細胞性に出現し、稀れに、ソマトスタチン含有細胞が 2—4 個程度集簇して認められるのにすぎない。ところが 2 例の結石症肝では、1 腺房に多数の内分泌細胞が認められたり、内分泌細胞陽性腺房が集簇的かつ広汎に認められ、これらは内分泌細胞過形成性病変と考えられた。

このような内分泌細胞の過形成に関しては慢性胃炎において既に報告されている^{20)~23)}。しかし、なぜこの 2 例にだけこのような病変が出現したのかは不明である。内分泌細胞過形成は内分泌細胞腫瘍特にカルチノイドの前病変として注目されているが、消化管において、胃の場合は前述の如く上皮層内の内分泌細胞過形成が、小腸では上皮外での過形成が認められている²⁴⁾。今回の内分泌細胞過形成病変は、肝内胆管においてもカルチノイドをはじめ内分泌細胞腫瘍の発生母地と成りうる可能性が示されたことは興味深い。

III. 肝内胆管癌

胃腸管をはじめ各種臓器内の腺癌組織中に内分泌細胞が認められることが知られている^{25)~29)}。胆管系でも例外ではなく、そのすべてが肝外胆管癌、胆嚢癌についての報告であり^{7)~9)11)}肝内胆管癌についての報告は Kozuka らの報告のみである⁷⁾。

今回検索した肝内胆管癌は 10 例でありこのうち 2 例 (20%) に、癌巣内に内分泌細胞を認め、Kozuka らの報告 (25 例中 1 例 (4%)) に一致している。しかし、腫瘍内の内分泌細胞は極く僅かであり、ホルモン産生過剰に伴う臨床症状もみられなかった。また、今回の胆管癌は何れも腺癌であり、内分泌細胞由来と考えられるカルチノイドや小細胞未分化癌はみられず、従来の報告にもカルチノイドの肝内発生が極めて稀れにみられるのみである。しかし、前述の如く、少数例ではあるが、内分泌細胞の過形成を伴った慢性肝内胆管炎例があり、肝内結石症に伴った肝内胆管癌の頻度が、肝内結石症の 10% に相当 (当教室例について) したので¹³⁾、今後、症例を増し検討を続ける必要があると考えられた。

結 論

正常肝と肝内結石症肝の肝内胆管系の主要枝の上皮系細胞および肝内胆管癌内での内分泌細胞の有無について検索し、以下の所見を得た。

1. 成人正常肝の 70% に、肝内胆管付属腺の壁外腺に散在性にソマトスタチン含有細胞や argyrophil 細胞がみられ、両者はそれぞれ異なった細胞であった。胎児正常肝の 1 例および乳児正常肝の 7 例すべての壁外腺にもソマトスタチン含有細胞や argyrophil 細胞が認められたので、これらは肝内胆管系に生理的に存在する固有の内分泌細胞と考えられた。

2. 肝内結石症肝の 52% にセロトニン含有細胞、48% に argyrophil 細胞、14% に膵ポリペプチド含有細胞、10% にモチリン含有細胞、10% にグルカゴン含有細胞、5% にガストリン含有細胞が認められた。これらは胎児肝、乳児肝にはまったく認められなかったもので、慢性炎症に続発して出現した肝内胆管非固有内分泌細胞と考えられた。また、結石症肝で、これら非固有内分泌細胞は、壁外腺の他に壁内腺や被覆上皮層内にも広く分布していたのが、特徴的であった。

3. 壁外腺におけるソマトスタチン含有細胞、argyrophil 細胞の分布密度は乳児肝 (4.3 ± 2.0 , 7.8 ± 4.0) > 成人肝 (0.79 ± 0.62 , 1.2 ± 0.9) > 結石症肝 (0.13 ± 0.10 , 0.24 ± 0.12) であり、年齢とともに、また、慢性炎症とともに相対的に付属腺腺房当たりの密度が減少した。

4. 2 例の結石症肝で内分泌細胞の過形成が認めら

れ,そのうち1例では壁外腺に argyrophil 細胞の増生が,他の1例では壁内腺にセロトニン含有細胞の増生が主として認められた。

5. 肝内胆管癌10例中2例(20%)の癌組織中に argyrophil 細胞を認めたが,その数は極めて少なく,また,カルチノイドや小細胞未分化癌は認められなかった。

以上から,肝内胆管主要枝の粘膜は,内分泌細胞の分布からみて,消化管粘膜に類似しており,胆管粘膜の増殖性疾患では,消化管と同じく内分泌細胞化生が起こるものと考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり,御指導御校閲を賜りました恩師太田五六教授に深く感謝の意を表します。また御協力いただきました野々村助教,中沼講師はじめ,第二病理の諸先生方および教室員の方々に心から感謝いたします。さらに,関連病院の,病理,外科,産婦人科の諸先生方より頂きました多大なる御援助,御協力に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Gould, V. E. & DeLellis: The neuroendocrine system: Its tumors, hyperplasias, and dysplasias. In Silverberg, S. G. (eds.), Principles and Practice of Surgical Pathology. p.1487-1501, John Wiley & Sons Inc., New York, 1983.
- 2) 伊藤 漸: 消化器の内分泌。基礎と応用, 内分泌学選書 4, 58-73 頁, 南山堂, 東京, 1979.
- 3) Erspamer, V.: Die enterochromaffin Zellen der Gallenwedge in normalen und pathologischen Zuständen. (Nach Untersuchungen beim Menschen und bei Säugetieren.) Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med., 297, 70-92 (1936).
- 4) Laitio, M.: Goblet cells, enterochromaffin cells, superficial gastric-type epithelium and antral-type glands in the gallbladder. Beitr. Pathol., 156, 343-358 (1975).
- 5) Tsutsumi, Y., Nagura, H., Osamura, Y., Watanabe, K. & Yanaihara, N.: Histochemical studies of metaplastic lesions in the human gallbladder. Arch. Pathol. Lab. Med., 108, 917-921 (1984).
- 6) Albores-Saavedra, J., Nadji, M., Henson, D. E., Ziegels-Weissman, J. & Mones, J. M.: Intestinal metaplasia of the gallbladder: A morphologic and immunocytochemical study. Hum. Pathol., 17, 614-620 (1986).
- 7) Kozuka, S., Kurashina, M., Tsubone, M., Hachisuka, K. & Yasui, A.: Significance of intestinal metaplasia for the evolution of cancer in the biliary tract. Cancer, 54, 2277-2285 (1984).
- 8) Albores-Saavedra, J., Cruz-Ortiz, H., Alcantara-Vazques, A. & Henson, D. E.: Unusual types of gallbladder carcinoma. A report of 16 cases. Arch. Pathol. Lab. Med., 105, 287-293 (1981).
- 9) Albores-Saavedra, J., Nadji, M. & Henson, D. E.: Intestinal-type adenocarcinoma of the gallbladder. A clinicopathologic and immunocytochemical study of seven cases. Am. J. Surg. Pathol., 10, 19-25 (1985).
- 10) Dancygier, H., Klein, U., Leushner, U., Hübner, K. & Classen, M.: Somatostatin-containing cells in the extrahepatic biliary tract of humans. Gastroenterology, 86, 892-896 (1984).
- 11) Yamamoto, M., Nakajo, S., Tahara, E. & Miyoshi, N.: Endocrine cell carcinoma of extrahepatic bile duct. Acta. Pathol. Jpn., 36, 587-593 (1986).
- 12) Nakanuma, Y., Terada, T., Tanaka, Y. & Ohta, G.: Are hepatolithiasis and cholangiocarcinoma aetiologically related? A morphological study of 12 cases of hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma. Virchows Arch. (A), 406, 45-58 (1985).
- 13) Ohta, G., Nakanuma, Y. & Terada, T.: Pathology of hepatolithiasis: Cholangitis and Cholangiocarcinoma. In Okuda, K., Nakanuma, F. & Wong, J. (eds), Intrahepatic calculi. p.91-113, Alan R. Liss Inc., New York, 1984.
- 14) 寺田忠史: ヒト正常肝, 肝内結石症肝および肝内胆管拡張症肝における肝内胆管付属腺組織の形態学的研究。十全医会誌, 93, 599-619 (1984).
- 15) Hsu, S. M., Raine, L. & Fanger, H.: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedure. J. histochem. Cytochem., 29, 577-580 (1981).
- 16) Ito, H., Yokozaki, H., Tokumo, K., Nakajyo, S. & Tahara, E.: Serotonin-containing EC cells in the normal human gastric mucosa and in gastritis. Immunohistochemical, electron microscopic and autoradiographic studies. Virchows Arch. (A), 409, 313-323 (1986).
- 17) 安田守秀, 松尾 裕: 胆汁排泄調節ホルモン。代謝, 23, 57-64 (1986).

- 18) Krejs, G. J., Orci, L., Conlon, J. M., Ravazzola, M., Davis, G. R., Raskin, P., Collins, S. M., McCarthy, D. M., Baetens, D., Rubenstein, A. & Unger, R. H.: Somatostatinoma syndrome. Biochemical, morphologic and clinical features. *N. Engl. J. Med.*, **301**, 285-292 (1979).
- 19) Tsutsumi, Y.: Immunohistochemical studies on glucagon, glicentin and pancreatic polypeptide in human stomach: normal and pathological conditions. *Histochem. J.*, **16**, 869-883 (1984).
- 20) Black, W. C. & Haffner, H. E.: Diffuse hyperplasia of gastric argyrophil cells and multiple carcinoid tumors. An historical and ultrastructural study. *Cancer*, **21**, 1080-1099 (1968).
- 21) Tahara, E., Haizuka, S., Kodama, T. & Yamada, A.: The relationship of gastrointestinal endocrine cells to gastric epithelial changes with special reference to gastric cancer. *Acta. Pathol. Jap.*, **25**, 161-177 (1975).
- 22) Hodges, J. R., Isaacson, P. & Wright R.: Diffuse enterochromaffin-like (ECL) cell hyperplasia and multiple gastric carcinoids: A complication of pernicious anemia. *Gut*, **22**, 237-241 (1981).
- 23) Holle, H. E., Spann, W., Eisenmenger, W., Riedel, J. & Pradayrol, L.: Diffuse somatostatin-immunoreactive D-cell hyperplasia in the stomach and duodenum. *Gastroenterology*, **91**, 733-739 (1986).
- 24) Sherman, S. P., Li, C. -Y. & Carney J. A.: Microproliferation of enterochromaffin cells and the origin of carcinoid tumors of ileum. A light microscopic and immunocytochemical study. *Arch. pathol. Lab. Med.*, **103**, 639-641 (1979).
- 25) Bonar, S. F. & Sweeney, E. C. S.: The prevalence, prognostic significance and hormonal content of endocrine cells in gastric cancer. *Histopathology*, **10**, 53-63 (1986).
- 26) Gledhill, A., Enticott, M. E. & Howe, S.: Variation in the argyrophil cell population of the rectum in ulcerative colitis and adenocarcinoma. *J. Pathol.*, **149**, 287-291 (1986).
- 27) Gould, V. E., Linnoila, R. I., Memorli, V. A. & Warren, W. H.: Neuroendocrine components of bronchopulmonary tract: Hyperplasias, dysplasias, and neoplasms. *Lab. Invest.*, **49**, 519-535 (1983).
- 28) Nesland, J. M. & Holm, R.: Neuron specific enolase immunostaining in the diagnosis of breast carcinomas with neuroendocrine differentiation. Its usefulness and limitations. *J. Pathol.*, **148**, 35-43 (1986).
- 29) Aguirre, P., Scully, R. E., Wolfe, H. J. & DeLellis, R. A.: Endometrial carcinoma with argyrophil cells: A histochemical and immunohistochemical analysis. *Hum. Pathol.*, **15**, 210-217 (1984).

Histochemical and Immunohistochemical Demonstration of Endocrine Cells in the Human Intrahepatic Bile Duct System Hiroshi Kurumaya, Department of Pathology (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., **96**, 46—57 (1987)

Key words: endocrine cell, intrahepatic bile duct, hepatolithiasis, endocrine cell hyperplasia

Abstract

The occurrence of endocrine cells was investigated immunohistochemically and histochemically in the intrahepatic large bile duct of normal and diseased livers. Seven cases of infant normal livers, 20 adult normal livers, 21 cases of hepatolithiasis and 10 intrahepatic bile duct carcinomas were examined. The epithelia of the intrahepatic bile ducts were classified to duct-lining, intramural and extramural glandular epithelia. Scattered endocrine cells exhibiting either somatostatin-immunoreactivity or argyrophilia were found only in the extramural glands of normal adult livers (somatostatin-containing cells, 0.79 ± 0.62 ; argyrophil cells, $1.2 \pm 0.9\%$), while they were observed in infant more frequently (4.3 ± 2.0 ; $7.8 \pm 4.0\%$) than in adult ($p < 0.005$).

In cases of hepatolithiasis with a marked proliferation of the intra- and extramural glands (proliferative cholangitis), the density of these cells in extra-mural glands was lower (0.13 ± 0.10 ; $0.24 \pm 0.12\%$) than in normal adult livers ($p < 0.005$). In proliferative cholangitis, however, argentaffin cells, serotonin-, pancreatic polypeptide-, motilin-, glucagon-, and gastrin-containing cells existed not only in the extramural glands but also in the lining epithelial layer and intramural glands, although these cells were hardly found in normal livers. Moreover, the hyperplasia of endocrine cells was observed in the extra- or intramural glands in two cases of hepatolithiasis; one showed the hyperplasia of argyrophil cells and the other that of serotonin-containing cells. The argyrophilic granules in cancer cells were observed in 2 cases of intrahepatic bile duct carcinoma, although they did not seem to be originated from endocrine cells. The data suggest that the epithelial system of the intrahepatic large bile ducts fairly resembles the gut epithelial system and endocrine cell metaplasia is induced in the duct epithelial system on chronic proliferative cholangitis.